

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Antonija Topić, apsolvent

Diplomski studij: Bilinogojstvo

Smjer: Zaštita bilja

PATOGENOST *MONILINIA FRUCTIGENA* ZA JABUKU I KRUŠKU
Diplomski rad

Osijek, 2014.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Antonija Topić, apsolvant

Diplomski studij: Bilinogojstvo

Smjer: Zaštita bilja

PATOGENOST *MONILINIA FRUCTIGENA* ZA JABUKU I KRUŠKU
Diplomski rad

Osijek, 2014.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Antonija Topić, apsolvent

Diplomski studij: Bilinogojstvo

Smjer: Zaštita bilja

PATOGENOST *MONILINIA FRUCTIGENA* ZA JABUKU I KRUŠKU
Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. izv.prof.dr.sc. Karolina Vrandečić predsjednik
2. prof.dr.sc. Jasenka Ćosić, mentor
3. prof.dr.sc. Mirjana Brmež, član

Osijek, 2014.

Sadržaj:

1	UVOD.....	1
2	PREGLED LITERATURE.....	2
2.1	Taksonomski podatci.....	2
2.2	Rasprostranjenost <i>Monilinia fructigena</i>	3
2.3	Simptomi	3
2.4	Životni ciklus i epidemiologija	5
2.5	Parazit.....	7
2.6	Domaćini gljive <i>Monilinia fructigena</i>	8
2.7	Uvjeti razvoja bolesti	8
2.8	Mjere zaštite	8
2.8.1	Prirodni neprijatelji.....	9
3	MATERIJAL I METODE	10
4	REZULTATI I RASPRAVA.....	11
5	ZAKLJUČAK.....	24
6	LITERATURA	25
7	SAŽETAK	27
8	SUMMARY.....	28
9	POPIS TABLICA	29
10	POPIS SLIKA.....	30
	TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA	31
	BASIC DOCUMENTATION CARD	32

1 UVOD

Jabuka (*Malus domestica* Borkh.) i kruška (*Pyrus communis* L.) su značajne voćarske kulture kako u svijetu tako i u Republici Hrvatskoj. Riječ je o srodnim biljnim vrstama koje se u voćarskoj terminologiji svrstavaju u skupinu jezgričavog voća. U Hrvatskoj je jabuka najzastupljenija voćna vrsta s 36 % udjela u voćarskoj proizvodnji dok u svijetu zauzima treće mjesto odmah iza agruma i banana. Kruška je u odnosu na jabuku manje zastupljena voćarska kultura u Hrvatskoj. Podaci iz 2008. ukazuju da nasadi krušaka u Hrvatskoj zauzimaju približno 500 ha. U prošloj je godini, što potvrđuju podaci Državnog zavoda za statistiku zabilježen porast u prinosu za 52 % u odnosu na 2012., što govori o sve većem interesu za proizvodnju krušaka. Tehnologija proizvodnje svih jezgričavih voćnih vrsta stalno napreduje s ciljem povećanja kakvoće i količine uroda. Kao i u slučaju gotovo svih voćarskih kultura, zaštita jezgričavih voćaka od bolesti i štetnika predstavlja vrlo važnu stavku u održavanju visoke produktivnosti nasada i isplativosti proizvodnje. Na jezgričavim i koštičvom voću javljaju se različite *Monilinia* vrste. *Monilinia fructigena* u našem uzgojnom području najznačajniji je uzročnik truleži jezgričavog voća, posebno jabuke i kruške. Bolest može uništiti ili smanjiti urod truljenjem zrelih plodova, bilo na stablu ili nakon branja u skladištima. *Monilinia fructigena* uzrokuje manje štete u odnosu na *Monilinia fructicola* i *Monilinia laxa* iako ponekad u Europi izaziva gospodarski značajne štete, naročito kod jabuka i šljiva u vrućim i vlažnim ljetima (Smith i sur., 1992). Važno je istaknuti činjenicu da je na jezgričavom voću apsolutno dominantna uzročnik smeđe truleži vrsta *M. fructigena* (Cvjetković, 2010).

2 PREGLED LITERATURE

Monilinia fuctigena izaziva bolest pod nazivom smeđa trulež plodova i najčešća je vrsta roda *Monilinia* koja se pojavljuje na jabuci i krušci u Europi (Jones and Aldwinckle, 1990). U našem uzgojnom području najvažniji je uzročnik propadanja plodova kod jezgričavog voća (Cvjetković, 2010)

2.1 Taksonomski podatci

ODJEL: *Ascomycota*

PODODIJEL: *Pezizomycotina*

RAZRED : *Discomycetes*

RED: *Helotiales*

PORODICA: *Sclerotiniaceae*

ROD: *Monilinia*

VRSTA: *Monilinia fructigena* (Aderh. & Ruhland) Honey ex Whetzel

SINONIMI:

Oospora candida Wallr. 1833

Monilia fructigena Pers. : Fr. 1801

Acrosporium fructigenum (Pers.) Pers. 1822

Oospora fructigena (Pers. : Fr.) Wallr. 1833

Sclerotinia fructigena (Pers. : Fr.) J. Schröt. 1893

Sclerotinia fructigena Aderh. & Ruhland 1905 -

Stromatinia fructigena (Pers. : Fr.) Boud. 1907 = *Torula fructigena* Pers. 1796

Oidium fructigenum Kunze & J.C. Schmidt 1817

Oidium wallrothii Thüm. 1875

2.2 Rasprostranjenost *Monilinia fructigena*

Bolest se primarno pojavila u Europi i Aziji (Kina i Korea). Godine 1979. bolest je utvrđena u Marylandu i u SAD-u, ali je uspješno iskorijenjena (CABI, 2013; EPPO, 2013). U Europi je locirana u 29 različitih zemalja među kojima je i Republika Hrvatska. Uz Europu i Kinu *M. fructigena* je prisutna u najmanje 20 drugih zemalja. Osim jabuke i kruške ovaj patogen ima i mnoge druge poznate domaćine (CABI 2013), što može dovesti do njezinog širenja i u područja u kojima za sada nije prisutna.

2.3 Simptomi

Bolest izazva slične simptome kod većine domaćina, a to su palež cvjetova, trulež plodova i rak stabljike. Primarni i najčešći simptomi koji se pojavljuju su trulež plodova (Jones and Aldwinckle, 1990), dok su palež cvjetova i rak na stabljici rijetki, ali se mogu razviti iz inficiranih cvjetova (Xu i sur. 1998).

Plodovi se mogu zaraziti u svim fazama razvitka, od zametanja do berbe. Ipak, najveći broj plodova biva zaražen u drugom dijelu vegetacije kada su plodovi osjetljiviji na zarazu. (Cvjetković, 2010) Kod zrelih plodova truljenje će brže napredovati, a početne lezije su smeđe, kružne i čvrste. Na mjestu prodora parazita mijenja se boja, dok se na kožici ploda jabuke i kruške razvija smeđa pjega ispod koje je smeđe tkivo. (Cvjetković 2010). Nastala pjega je ispočetka glatka, a kasnije se iz kože zaraženoga voća razvijaju jastučići kojeg čine micelij gljive zajedno s konidijama, a vrlo često su raspoređeni u koncentričnim krugovima (Slika 1). Ovakav raspored micelija u koncentričnim krugovima uvjetovan je pojavom da gušći micelij nastaje tijekom dana, a rjeđi tijekom noći. S vremenom početna pjega postaje sve veća, a na njoj se pojavljuje sve veći broj koncentričnih krugova. Naposljetku čitavi plod propada, poprimajući smeđu boju. Trulo voće može pasti na tlo ili se osušiti na stablu, pretvarajući se u tvrdu, smežuranu tvorevinu tzv. mumiju (Anon., 1991). Mumije plodova ostaju obješene na granama voćaka sve do proljeća ili padaju na tlo gdje ostaju tijekom zimskih mjeseci, u cijelosti ili djelomično zakopane pod zemljom.

U voćnjacima zbog prisutnosti velikog broja spora ovoga patogena dolazi do unošenja kontaminiranih jabuka i krušaka u hladnjače ili skladišta. Ukoliko uvjeti u prostorima za skladištenje postanu povoljni za infekciju, oštećeni plodovi bivaju inficirani. Kod ovako zaraženih plodova javlja se crna trulež. Plodovi postanu crni, dugo zadržavaju loptasti oblik, površina im je glatka i sjajna, a sporulacija je zbog nedostatka svjetla oskudna ili je uopće nema.

Palež cvjetova javlja se u proljeće, a na zarazu su osjetljivi svi dijelovi cvijeta. Zaraženo tkivo postaje tamno smeđe s tipičnom pjegavošću. Infekcija se širi cvjetovima što naposljetku rezultira venućem čitavog cvata. Ovakvi simptomi se lako mogu zamijeniti sa simptomima drugih bolesti.



Slika 1. Smeđa trulež ploda jabuke (<https://www.google.hr/>)



Slika 2 *Monilinia fructigena* u presjeku ploda jabuke (original)

2.4 Životni ciklus i epidemiologija

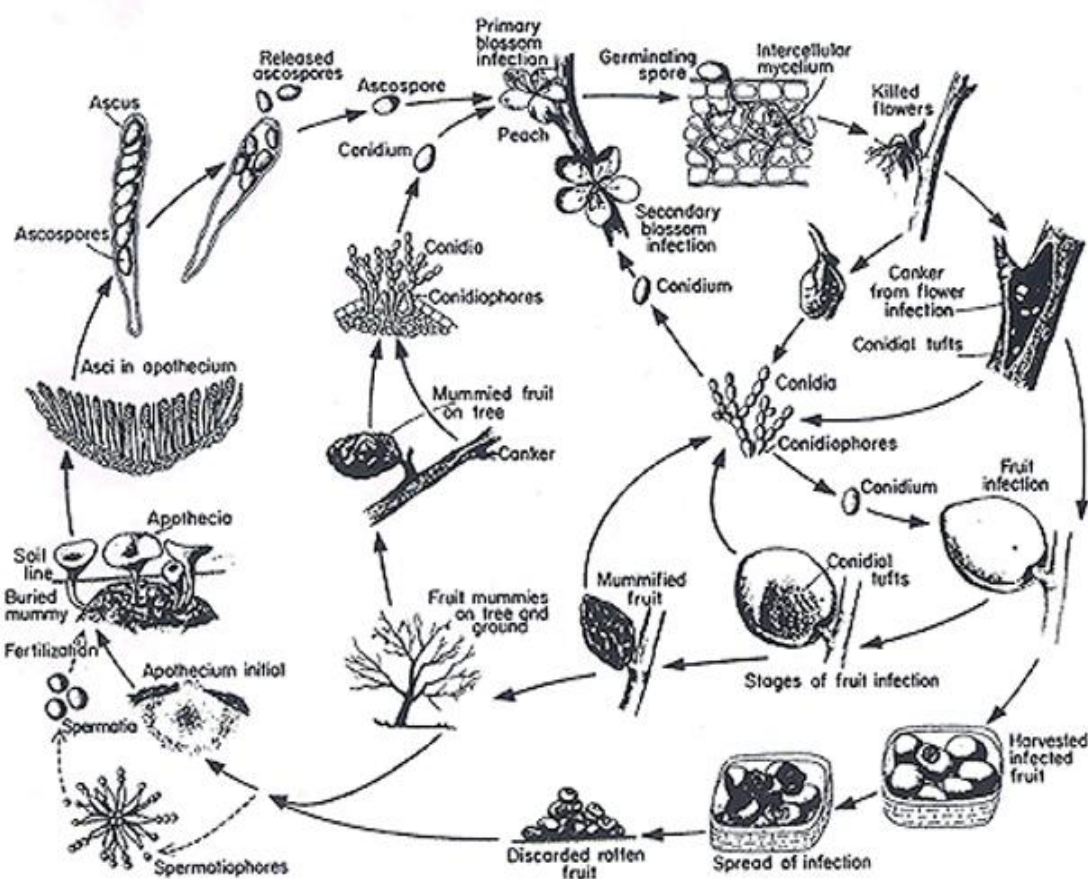
Monilinia fructigena prezimljuje u mumificiranim plodovima u krošnji stabla te na zaraženim otpalim plodovima na tlu. Mumificirani plodovi prerasli su micelijem gljive koji može ostati vitalan i po nekoliko godina. Takav micelij pretvoren je u gljivičnu masu koja se naziva stroma. U stručnoj literaturi strome se spominju i pod nazivom „mumije”. Dolaskom proljeća i porastom temperatura gljiva na mumificiranim plodovima, zaostalim iz prethodne vegetacije, stvara obilje konidija koje raznosi vjetar i kukci. Da bi se kondije stvorile potrebno je da mumije pri temperaturi od 20 °C budu vlažne najmanje 12 sati (Cvjetković 2010). Cvjetković također navodi kako se najobilnija sporulacija očekuje kada je vlaženje trajalo 38-49 sati. Nakon tog razdoblja uz relativnu vlagu zraka od 94-100 % konidije se stvaraju neprekidno zbog čega se poslije kišnog razdoblja očekuju obilnije zaraze. Grafički prikaz životnog ciklusa *Monilina fructigena* prikazan je na slici 3.

Jedna od karakteristika gljiva iz odjela *Ascomycota* je da te gljive mogu imati dvije različite reproduktivne faze, odnosno imaju spolni stadij (teleomorf) koji uključuje formiranje askusa s askosporama i nespolni stadij (anamorf) koji uključuje produkciju konidija. Teleomorfni ili spolni stadij gljive nosi naziv *Monilinia fructigena* (sinonim *Sclerotinia fructigena*) dok anamorfni ili nespolni stadij nosi naziv *Monilia fructigena*. U teleomorfnom stadiju gljiva stvara plodna tijela u kojima se nastaju spolne spore ili askospore. Plodno tijelo, apotecij, je plitko, zdjeličasto i potpuno otvoreno, a nastaje na mumificiranim otpalim plodovima. Za vrijeme kišnog vremena askospore bivaju izbačene iz askusa i zahvaćene u zračne struje raznose se i na veće udaljenosti (Cvjetković, 2010). U dodiru s vodom askospore prokliju u micelij koji će inficirati plodove. Apoteciji gljive *Monilina fructigena* u prirodi se vrlo rijetko pojavljuju pa se smatra da praktično nemaju nikakvu ulogu u epidemiologiji smeđe truleži (Novak i sur. 2012).

Najznačajniji izvor primarnih zaraza tijekom vegetacije predstavljaju mumificirani plodovi na stablu te otpali plodovi na tlu (Novak i sur. 2012). U voćnjacima s većim brojem sorata različitog vremena dozrijevanja, raniji kultivari mogu biti izvor zaraze za kasnije kultivare. Slično ovome, potvrđeno je da izvor zaraze smeđom truleži u pojedinom nasadu mogu biti okolni voćnjaci ili pojedinačna stabla biljaka domaćina *Monilinia fructigena*. Prema nekim procjenama, konidije *Monilina sp.* mogu letjeti i do 500 m udaljenosti, a broj spora eksponencijalno se smanjuje udaljenošću od njihovog izvora (EFSA, 2011).

Cvjetković navodi da se plodovi mogu zaraziti u svim fazama njihova razvitka. Ipak najveći broj plodova biti će zaražen u osjetljivoj fazi razvoja ploda. Plodovi su osjetljivi na zarazu neposredno poslije formiranja, nakon čega njihova otpornost raste do početka dozrijevanja. Zreli plodovi predstavljaju potencijalno najosjetljiviju fazu na zarazu te se na takvim plodovima trulež najbrže razvija.

Infekcija plodova smeđom truleži odvija se preko pukotina i rana na površini ploda (Xu i Robinson, 2000), a također je moguće prenošenje s ploda na plod ukoliko se oni međusobno dodiruju. Iako je izravna infekcija plodova jabuka smeđom truleži uočena u laboratoriju (Sharma i Kaul, 1990), u prirodi uzročnik smeđe truleži infekciju ostvaruje isključivo kroz rane koje su nastale biotskim i abiotskim čimbenicima.



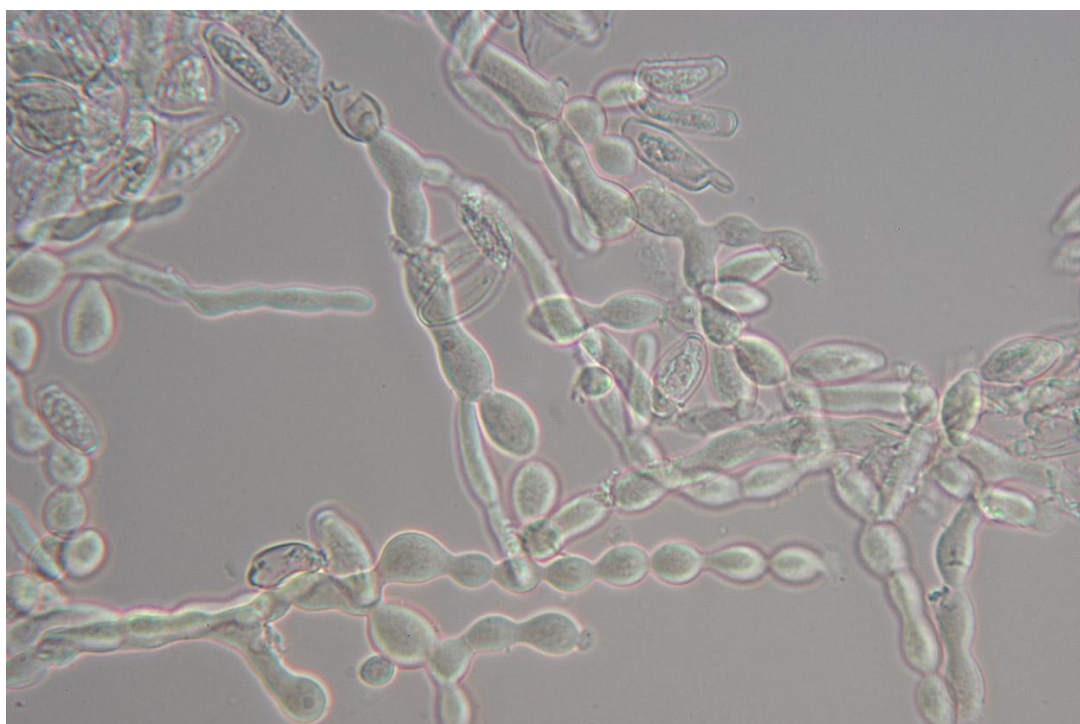
Slika 3 Životni ciklus gljive *Monilinia fructigena*

(<http://www.vinogradarstvo.hr/slika.php?id=1256>)

2.5 Parazit

Konidiji su blastične i nastaju otkidanjem od hifa ili u lancima s najmaladom sporom na kraju. Elipsoidne su, ovalne ili limunaste sa šiljatim krajevima, tankostijene, bezbojne (žučkate u masi), dimenzije 12-34 x 6-15 μm (prosječno 21 x13). U vodi (držanoj 18 sati na 25 °C) konidije kliju u kratku nerazgranatu hifu.

Na PDA podlozi je micelij bezbojan (Slika 4), rubovi kolonije su ravni; zračni micelij je isprva rijedak, kasnije razvija koncentrične zone gustoga micelija i svjetložutoga sporogenoga tkiva. Na površini agara ili unutra podloge katkada se stvaraju sitne nepravilne stromatične manje ili više čvrste tvorevine, ali u velikom broju izolata micelij starenjem samo poprimi tamniju nijansu. Primarne hife na rubovima rastuće kolonije tankostijene su, najčešće više od 300 μm duge i 7-11 μm široke, s jednim ili više ogranaka smještenih ispod prve pregrade. Sekundarni i sljedeći ogranci hifa obično su prilično tanji od primarnih hifa (Cvjetković, 2010).



Slika 4 Konidije gljive *Monilinia fructigena*

(<https://www.google.hr/>)

2.6 Domaćini gljive *Monilinia fructigena*

Pod odgovarajućim uvjetima okoliša, *Monilinia fructigena* će zaraziti ne samo kultivirane vrsta voća, nego i mnoge druge članove porodice *Rosaceae*. Glavne komercijalne vrste koje su domaćini *M. fructigena* uključuju jabuku (*Malus domestica*), krušku (*Pyrus communis*), dunju (*Cydonia oblonga*), šljivu (*Prunus domestica*) i trešanjku (*Prunus avium*). Višnja (*Prunus cerasus*) je manje važan domaćin od breskve (*Prunus persica*), nektarine (*Prunus persica* var. *nucipersica*), i marelice (*Prunus armeniaca*). Iako puno manje značajni, ovoj su gljivi domaćini i kivi (*Actinidia arguta*), badem (*Amygdalus communis*), rajčica (*Solanum lycopersicum*), jagode (*Fragaria* spp.), kupine (*Rubus* spp.) i paprika (*Capsicum* spp.) (EPPO, 2013).

2.7 Uvjeti razvoja bolesti

Najznačajniji čimbenici za razvoj bolesti su vlažnost i temperatura, pri čemu vlažnost biljnih organa ima značajniju ulogu (Xu i sur., 2001; Biggs i Northover, 1988) *M. fructigena* je uzročnik bolesti u vlažnim uvjetima. Gljiva preferira kiše, magle i ostale čimbenike koji povećavaju vlažnost. Smeđa trulež je rijetkost u aridnim područjima. Konidije se uglavnom formiraju na mumificiranim plodovima na temperaturi većoj od 5 °C. Klijavost i rast klične cijevi djelomično su inhibirani svjetlom, ali je sporulacija poboljšana. Optimalne temperature za klijanje konidija su od 3 do 25 °C, optimalna vlaga zraka 97 %.

2.8 Mjere zaštite

Agrotehničke i kemijske mjere zaštite prvenstveno imaju preventivnu zadaću. Kako je izvor prvih zaraza najčešće otpali zaraženi plod na tlu te mumificirani plodovi zaostali na stablu, njihovim sakupljanjem i iznošenjem iz voćnjaka uvelike se pridonosi smanjenju primarnih izvora zaraze. Iako je to jedna od najvažnijih mjera zaštite i prevencije, može biti nepraktična, posebice u većim nasadima u kojima nakon berbe zaostaje veliki broj plodova. U takvim slučajevima zaoravanje trulih plodova pridonosi smanjenju infektivnog potencijala. Jednako tako korisno je i preporučljivo tijekom vegetacije iz nasada uklanjati plodove sa simptomima truleži. S obzirom da je prodor gljive kroz različita oštećenja ploda uvelike olakšan potrebno je spriječiti nastanak mehaničkih oštećenja ploda. Osim toga plodove je potrebno zaštititi suzbijanjem insekata *Carpocapsa pomonella*, *Cydia pomonella*, *Adoxophyes*, *Capua reticulana* i drugih koji također predstavljaju izvor

oštećenja ploda (Cvjetković 2010). Prilikom podizanja voćnjaka potrebno je izabrati odgovarajuću lokaciju te redove usmjeriti u pravcu glavnih vjetrova kako bi se vlaga manje zadržavala u krošnji, a rezidbom suvišnih izbojaka također se može izregulirati cirkulacija zraka u svrhu smanjenog zadržavanja vlage. Pozornost treba obratiti i prilikom gnojidbe jer je zabilježeno da su visoke količine dušičnih gnojiva u pozitivnoj korelaciji s infekcijom *M. fructigena* (Daane i sur, 1996).

Posebna pažnja je potrebna prilikom pakiranja i skladištenja voća, jer se zaraza prenosi kontaktom zdravog i zaraženoga ploda, a oštećeni plodovi se ne bi trebali biti skladištiti (Wormald, 1954). Mnoge od nabrojanih mjera zaštite usmjerene su na uklanjanje izvora zaraze. Bez obzira na uklanjanje zaraženih plodova i provođenje agrotehničkih mjera, zaštita od smeđe truleži danas se u većini nasada provodi kemijskim mjerama. Kemijska kontrola usmjerena je na zaštitu organizama od infekcije neovisno o njegovom izvoru. Stoga je istraživanje čimbenika koji utječu na distribuciju konidija potreban za određivanje pravovremene i učinkovite uporabe kemijskih sredstava. Prema Holb (2008) učestalost bolesti u voćnjacima jabuke značajno je bila povezana sa sveukupnim brojem konidija u zraku, koje su se kroz sezonu povećavale, posebno nakon pojavljivanja prvih zaraženih plodova. Kretanje broja konidija tijekom dana ide u pravcu maksimuma u popodnevnim satima, odnosno dijelu dana s višim temperaturama i nižom vlagom zraka. U takvim uvjetima potrebno je primijeniti fungicidna sredstva. Tretiranje se obavlja sredstvima na osnovi kaptana ili kombinacije piraklostrobina i boskalida jednom ili dva puta pred berbu (ovisno o karenci). Te se time smanjuje mogućnost zaraze ovom gljivom, ali i drugim uzročnicima bolesti u razdoblju skladištenja (Cvjetković, 2010).

2.8.1 Prirodni neprijatelji

U proteklih desetak godina u svijetu provedena su mnoga istraživanja mogućnosti primjene i učinkovitosti antagonističkih mikroorganizama, esencijalnih ulja ili biljnih ekstrakta (Novak i sur. 2012). U brojnim istraživanjima potvrđena je učinkovitost antagonističkih gljiva ili bakterija na razvoj smeđe truleži na plodovima no u praksi se ove metode ne koriste. Harada (1998) je objavio da se mikoparazitna gljivica *Lambertella corni-marisi* pojavljuje na stromama na plodovima jabuka. Kiseline koje produciraju gljive domaćini stimuliraju stvaranje mikoparazitnih gljivica *Lambertella corni-marisi* (Murakami i sur, 2007).

3 MATERIJAL I METODE

Istraživanje je provedeno u laboratoriju za fitopatologiju na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku tijekom prvog tromjesečja 2014. godine.

Cilj istraživanja bio je usporediti patogenost izolata gljive *Monilinia fructigena* izoliranog sa dunje, na sortama jabuka i krušaka u kontroliranim uvjetima laboratorija. Za ispitivanje patogenosti korištene su sljedeće sorte jabuka: Grenny Smith, Idared, Chrisp Pink, Jonagold, Golden Delicious, dok su za ispitivanje patogenosti na kruškama korištene samo dvije sorte, sorta Williams i sorta Naši.

Kako bi se utvrdila patogenost izolata *Monilinia fructigena* izoliranog s dunje, obavljena je umjetna inokulacija zdravih plodova jabuke i kruške. Plodovi su prethodno oprani pod mlazom tekuće vode i posušeni papirnatim ubrusom. Na svakom plodu napravljen je sitni urez dezinficiranim skalpelom promjera do 5 mm. U svaki urez, mikrobiološkom iglom utisnut je djelić agara sa čistom kulturom izolata *Monilinia fructigena*. Inokulirani plodovi postavljeni su u staklene posude na sobnu temperaturu. Posude su ostavljene poklopljene s malo namočene vate kako bi se u zadržala vlaga. Od svake sorte zaražena su po dva ploda. Dinamika razvoja izolata gljive praćena je mjerenjem promjera lezije (okomito i vodoravno) i to treći, sedmi, deseti, četrnaesti, sedamnaesti, dvadeset i prvi, dvadeset i četvrti, dvadeset i osmi, trideset i prvi, trideset i peti i trideset i osmi dan. Ukupno je provedeno jedanaest mjerenja.

U drugom dijelu istraživanja provedeno je precijepljivanje izolata na tri različite hranjive podloge i to na PDA, Čapek i V8. Precijepljivanje je obavljeno u komori za rad u sterilnim uvjetima. U svaku Petrijevu zdjelicu s prethodno pripremljenim agarom prenesen je komadić micelija, a Petrijeve zdjelice s pricijepljenim izolatom *Monilinia fructigena* stavljene su termostatske komore na temperaturu od 15 °C odnosno 22 °C. Praćenje razvoja micelija provedeno je mjerenjem promjera micelija.

4 REZULTATI I RASPRAVA

Rezultati istraživanja patogenosti izolata *Monilinia fructigena* te dinamika razvoja gljive na različitim sortama jabuke i kruške prikazane su u tablici 1. Treći dan od inokulacije, na svim plodovima krušaka i jabuka zabilježeni su tipični početni simptomi smeđe truleži. Na mjestu ulaza parazita mijenja se boja, a na kožici ploda jabuka i krušaka razvija se smeđa pjega ispod koje je tkivo smeđe boje što odgovara opisu simptoma prema Cvjetković, 2010. Prosječne vrijednosti promjera lezije na plodu, uzete iz dva uzorka, pokazuju da sorta Grenny Smith treći dan od inokulacije ima najveći promjer kolonije od 10,25 mm. Najmanji promjer utvrđen je kod sorte Cripps pink i iznosio je 5,75 mm. Od ispitivanih sorata krušaka veći promjer kolonije, treći dan od inokulacije, imala je sorta Wiliams s prosječnom vrijednosti promjera od 14,5 mm što je za 2,5 mm veći promjer od promjera kolonije na sorti Naši.

Čar (2013) u svom diplomskom radu navodi da sorta Golden Delicious tipične simptome pokazuje šesti dan od umjetne inokulacije, a prosječni promjer kolonije iznosio je 37,5 mm. U ovom istraživanju sorta Golden Delicious tipične simptome pokazuje već treći dan od inokulacije, a sedmi dan od inokulacije promjer kolonije iznosi 16,5 mm (Slika 7) što je manje za 21mm u odnosu na vrijednost iz predhodno navedenog istraživanja.

Uzorci krušaka sorte Wiliams, sedmi dan nakon mjerenja promjera kolonije su odbačeni zbog propadanja, a prosječni promjer kolonije uzet iz dva uzorka iznosio je 22,75 mm (Slika 9). Na slikama 5, 6, 8, prikazan je promjer lezije na sortama Grenny Smith, Idared te na sorti kruške Naši i to sedmi dan od inokulacije.

Čar (2013) u svom istraživanju navodi da su plodovi jabuka sorata Idared i Cripps pink do trinaestog dana u potpunosti prekriveni truleži, dok je na plodovima sorte Grenny Smith trulež zabilježena do polovice ploda. U ovom istraživanju gljiva se na spomenutim sortama razvijala u sporijem intenzitetu pa je četrnaesti dan od inokulacije na sorti Grenny Smith prosječni promjer kolonije iznosio 21,5 mm (Slika 10), na sorti Idared prosječni promjer kolonije je iznosio 23 mm (Slika 11), dok na sorti Cripps Pink promjer kolonije iznosi svega 25.5 mm (Slika 12).

Trideset i osmi dan, ujedno i posljednji dan mjerenja prosječnih vrijednosti promjera kolonije, najmanji promjer zabilježen je na sorti jabuke Jonagold 37,25 mm (Slika 14). Tek jedan uzorak sorte Grenny Smith imao je trulež na više od polovice ploda (Slika 13). Promjeri kolonija na ostalim sortama kretali su se u sljedećim veličinama: sorta Idared

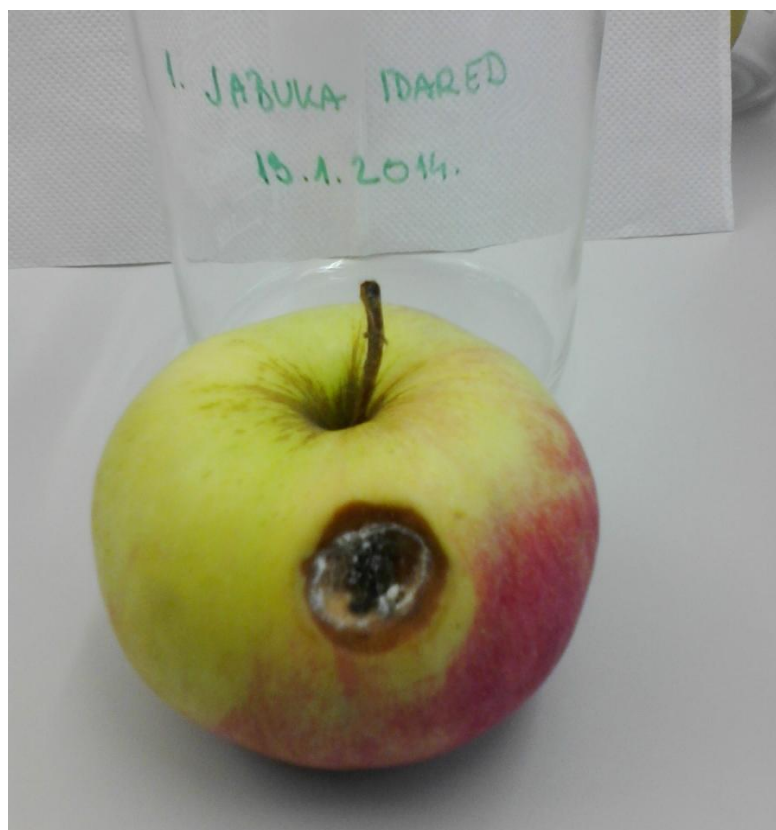
39,75 mm (Slika 15), Golden Delicious 47,25 mm (Slika 16), Cripps pink 61,25 mm (Slika 17), Kruška Naši 70 mm (Slika 18).

Tablica 1. Prosječne vrijednosti promjera lezije *Monilinia fructigena* na različitim sortama jabuka i krušaka

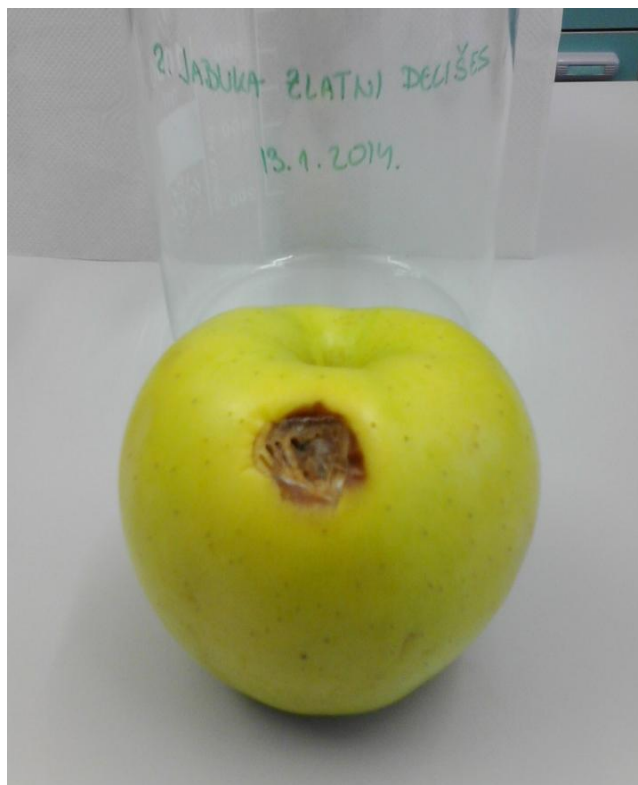
	Grenny Smith	Golden Delicious	Cripps Pink	Idared	Jonagold	Kruška Williams	Kruška Naši
1.dan 13.1.2014.	Inokulacija	Inokulacija	Inokulacija	inokulacija	inokulacija	inokulacija	inokulacija
3. dan 16.1.2014.	10,25	7,5	5,75	13	8,5	14,5	12
7. dan 20.1.2014.	15,75	16,5	16	16,75	13	22,75	20
10. dan 23.1.2014.	19,75	19,25	21,25	21,25	16,25	-	26,5
14. dan 27.1.2014.	21,5	21,75	25,5	23	20	-	31,25
17. dan 30.1.2014.	22,5	24,5	29,25	23,75	20,75	-	35,75
21 dan 3.2.2014.	26,5	26	34	24	24	-	40
24 dan 6.2.2014.	27,25	28,75	37,75	25	24,25	-	44,5
28 dan 10.2.2014.	31,75	38	43,75	27,5	27,25	-	48
31 dan 13.2.2014.	36,25	40	49	34,5	29,75	-	50,5
35 dan 17.2.2014.	53,25	42,75	54,75	35,75	36,75	-	50,5
38 dan 20.2.2014.	61,5	47,25	61,25	39,75	37,25	-	70



Slika 5. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Grenny Smith sedmi dan od inokulacije (original)



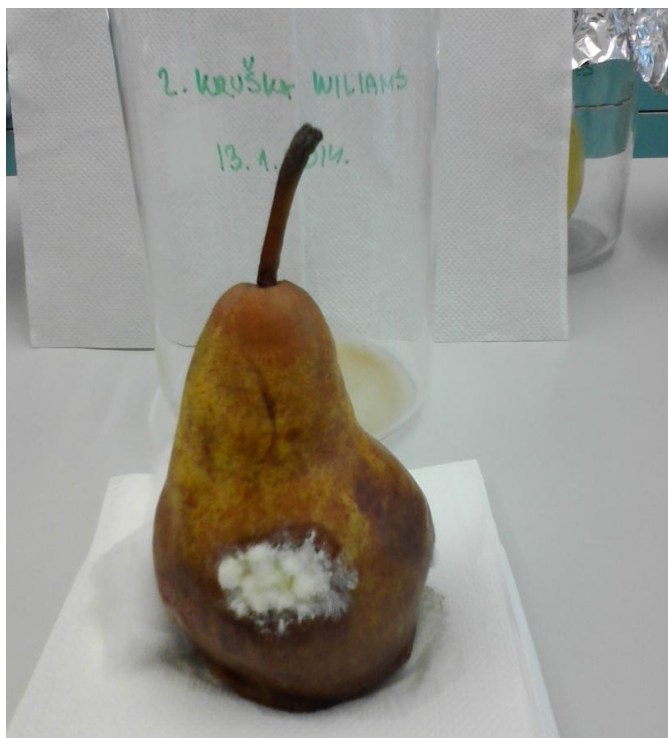
Slika 6. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Idared sedmi dan od inokulacije (original)



Slika 7. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Golden Delicious sedmi dan od inokulacije (original)



Slika 8. Simptomi smeđe truleži na plodu kruške Naši sedmi dan od inokulacije (original)



Slika 9. Simptomi smeđe truleži na plodu kruške Williams sedmi dan od inokulacije
(original)



Slika 10. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Grenny Smith četrnaesti dan od inokulacije (original)



Slika 11. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Idared četrnaesti dan od inokulacije (original)



Slika 12. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Cripps pink četrnaesti dan od inokulacije (original)



Slika 13. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Grenny Smith trideset i osmi dan od inokulacije (original)



Slika 14. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Jonagold trideset i osmi dan od inokulacije (original)



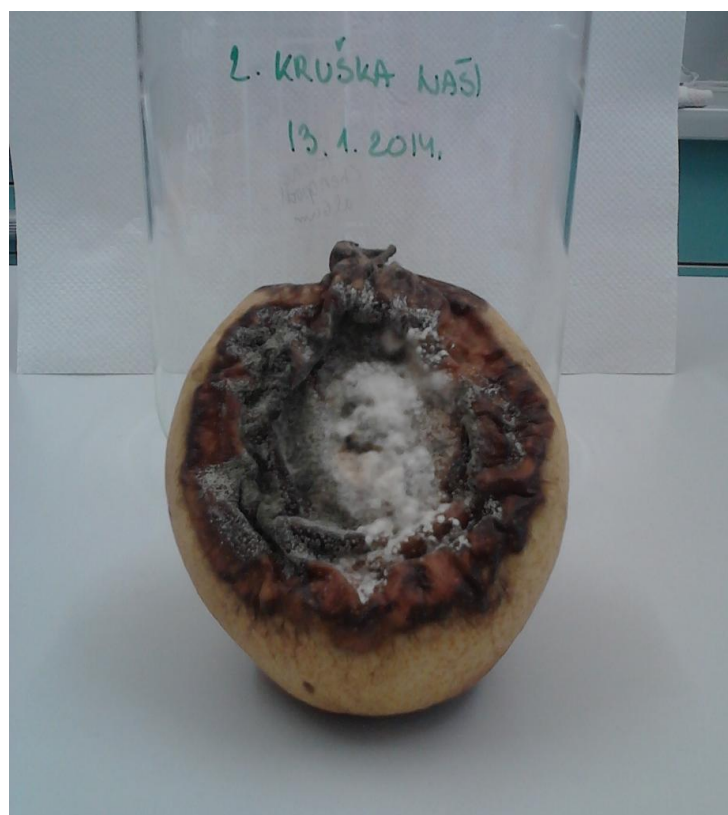
Slika 15. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Idared trideset i osmi dan od inokulacije (original)



Slika 16. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Golden Delicious trideset i osmi dan od inokulacije (original)



Slika 17. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Cripps pink trideset i osmi dan od inokulacije (original)



Slika 18. Simptomi smeđe truleži na plodu Kruške Naši trideset i osmi dan od inokulacije (original)

Tablica 2. Utjecaj podloge na porast micelija *Monilina fructigena* na temperaturama od 15 °C i 22 °C (LSD test)

	3. dan 6.2.2014.		7. dan 10.2.2014.		10. dan 13.2.2014.		14. dan 17.2.2014.	
	15°C	22°C	15°C	22°C	15°C	22°C	15°C	22°C
Čapek	13,00	19,50	24,00	43,00	35,50	60,50	40,50	80,00
V8	13,00	21,00	21,50	45,00	24,50	58,50	31,00	76,50
PDA	14,50	20,50	19,50	44,00	30,00	57,50	31,00	80,00
0,05	2,90	6,62	3,90	4,50	4,12	4,31	7,90	5,36
0,01	5,33	12,16	7,15	8,26	7,54	7,91	14,50	9,83

Trećeg dana od naciepljivanja gljive *Monilinia fructigena* nisu utvrđene statistički značajne razlike u porastu micelija između ispitivanih podloga (Tablica 2).

Sedmi dan od naciepljivanja gljive na hranjive podloge, pri temperaturi od 15 °C utvrđene su statistički značajne razlike u porastu micelija između podloge po Čapeku i PDA, dok na temperaturi od 22 °C nisu utvrđene statistički značajne razlike u porastu micelija na različitim podlogama (Tablica 2).

Deseti dan od naciepljivanja na temperaturi od 15 °C, promjer micelija na podlozi po Čapeku bio je statistički značajno veći od promjera micelija na PDA podlozi odnosno statistički vrlo značajno veći od promjera na V8 podlozi. Također promjer micelija na PDA podlozi bio je statistički značajno veći u odnosu na promjer micelija na V8 podlozi (Tablica 2).

Četrnaesti dan od naciepljivanja na temperaturi od 15 °C Porast micelija na podlozi po Čapeku bio je statistički značajno veći u odnosu na porast na ostale dvije podloge. Na temperaturi 22 °C razlike između podloga nisu utvrđene (Tablica 2).

Tijekom rada također je ispitan utjecaj dvije različite temperature (15 °C i 22 °C) na porast micelija koji se razvijao na hranjivim podlogama PDA, Čpek i V8 (Tablica 3, 4, 5, 6). Treći dan od naciepljivanja porast micelija na podlozi po Čapeku bio je statistički vrlo značajno brži na temperaturi 22°C u odnosu na 15°C. Na V8 podlozi i PDA porast micelija na 22°C bio je statistički značajno brži u odnosu na 15° (Tablica 3)

Tablica 3. Utjecaj dvije temperature na porast micelija *Monilina fructigena* treći dan od nacjepljivanja na tri različite hranjive podloge (LSD test)

	3 dan 6.2.2014			
	15°C	22°C	LSD	
Čapek	13,00	19,50	0,05 0,01	2,15 4,96
V8	13,00	21,00	0,05 0,01	6,08 14,01
PDA	14,50	20,50	0,05 0,01	3,04 7,02

Sedmi, deseti i četrnaesti dan od nacjepljivanja na svim hranjivim podlogama porast micelija na 15 °C bio je statistički vrlo značajno sporiji u odnosu na porast micelija na 22 °C (Tablica 4, Tablica 5, Tablica 6). Na slikama 20 i 21 prikazan je porast gljive sedmi i četrnaesti dan od nacjepljivanja.

Tablica 4. Utjecaj temperature od 15 °C i 22 °C na porast micelija *Monilina fructigena* sedmi dan od nacjepljivanja na tri različite hranjive podloge (LSD test)

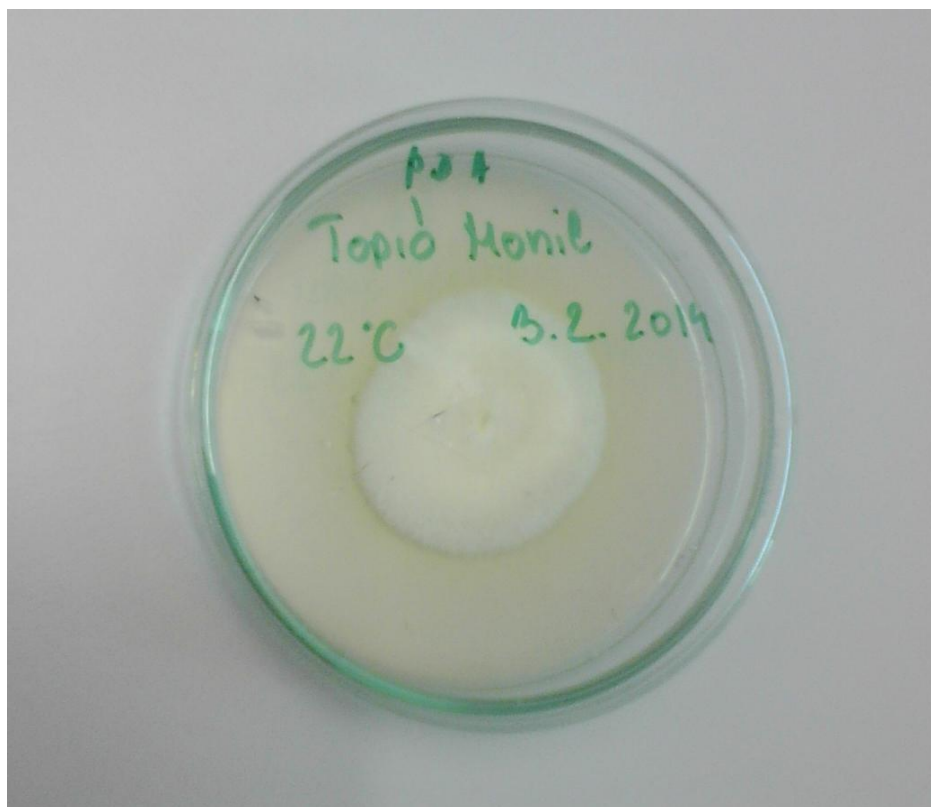
	7. dan 10.2.2014.			
	15°C	22°C	LSD	
Čapek	24,00	43,00	0,05 0,01	6,08 14,01
V8	21,50	45,00	0,05 0,01	4,81 11,10
PDA	19,50	44,00	0,05 0,01	2,15 4,96

Tablica 5. Utjecaj temperature od 15 °C i 22 °C na porast micelija *Monilina fructigena* deseti dan od nacjepljivanja na tri različite hranjive podloge (LSD test)

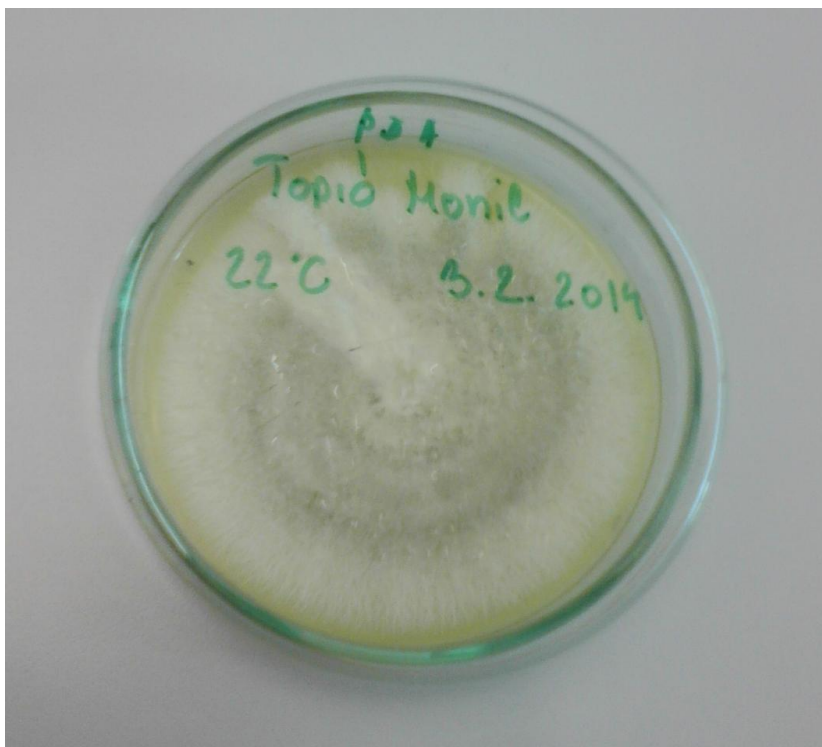
	10. dan 13.2.2014.			
	15°C	22°C	LSD	
Čapek	35,50	60,50	0,05 0,01	3,04 7,02
V8	24,50	58,50	0,05 0,01	3,04 7,02
PDA	30,00	57,50	0,05 0,01	2,15 4,96

Tablica 6. Utjecaj temperature od 15 °C i 22 °C na porast micelija *Monilinia fructigena* četrnaesti dan od naciepljivanja na tri različite hranjive podloge (LSD test)

	14 dan 17.2.2014.			
	15°C	22°C	LSD	
Čapek	40,50	80,00	0,05 0,01	4,18 11,10
V8	31,00	76,50	0,05 0,01	14,43 33,29
PDA	31,00	80,00	0,05 0,01	4,30 9,93



Slika 19. Porast micelija na temperaturi 22 °C, sedmi dan od naciepljivanja na PDA hranjivu podlogu



Slika 20. Porast micelija na temperaturi 22 °C, četrnaesti dan od naciepljivanja na PDA hranjivu podlogu

5 ZAKLJUČAK

Zaštita jezgričavih voćaka od bolesti i štetnika predstavlja vrlo važnu stavku u tehnologiji proizvodnje svih jezgričavih voćnih vrsta s ciljem da se u intenzivnoj proizvodnji jabuka i krušaka ostvari napredak povećanjem kakvoće i količine uroda. *Monilinia fructigena* uzročnik je smeđe truleži, bolesti koja direktno utječe na količinu prinosa jer uzrokuje trulež plodova na voćkama, a kasnije i u skladištu. Na osnovi rezultata dobivenih istraživanjem utvrđeno je da niti jedna od ispitanih sorata jabuka i krušaka nije otporna na bolest, ali su utvrđene izvjesne razlike u otpornosti. Dinamika razvoja smeđe truleži na umjetno inokuliranim plodovima, izolatom izoliranog sa dunje, pokazala se sporijom uspoređujući s istraživanjem u kojem je izolat *Monilinia fructigena* izoliran sa jabuke. U radu je provedeno i ispitivanje utjecaja različitih hranjivih podloga i temperatura na porast micelija, a na osnovi LSD testa, između pojedinih tretmana utvrđene su razlike.

6 LITERATURA

1. Anon (1991) Brown rot of pome fruit. Plant Quarantine Leaflet No. 37. Australian Quarantine and Inspection Service.
2. Biggs, A. R., Northover, J. (1988). Influence of temperature and wetness duration on infection of peach and cherry fruits by *Monilinia fructicola*. *Phytopathology* 78, 1352-1356.
3. Cvjetković B. (2010.): Mikoze i pseudomikoze voćaka i vinove loze, Zrinski, Čakovec
4. Daane KM, Dlott JW, Yokota GY, Johnson RS, Crisosto CH, Morgan DP, Michailides TJ, Ramirez HT, 1996. Influence of nitrogen fertilization on the susceptibility of nectarines to pathogens and pests. *Rivista di Frutticoltura e di Ortofloricoltura*, 58(3):41-45; [*Translated and adapted from California Agriculture* 49(4), (1995).].
5. EFSA Panel on Plant Health (2011). Pest risk assessment of *Monilinia fructicola* for the EU territory and identification and evaluation of risk management options. *EFSA Journal* 9(4): 2119, 155 pp.
6. EPPO, 2013. PQR database. Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization. <http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>
7. Harada Y, 1998. Taxonomic studies of plant parasitic fungi on fruit trees and forest trees in Japan. *Nippon-Kingakukai Kaiho*, 39:89-96.
8. Holb, I. J. (2008). Brown rot blossom blight of pome and stone fruits: symptom, disease cycle, host resistance, and biological control. *International Journal of Horticultural Science* 14, 15-21.
9. Ivić D, Novak A, (2012): Smeđa trulež koštićavih voćaka – *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey, Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo, Svetošimunska cesta 25, Zagreb
10. Jones AL and Aldwinckle HS [Eds.] (1990) Brown rot diseases. *Compendium of Apple and Pear Diseases*. American Phytopathology Society Press. 100 pp.
11. Murakami T, Takada N, Harada Y, Okuno T, Hashimoto M, 2007. Stimulation of the biosynthesis of the antibiotics lambertellols by the mycoparasitic fungus *Lambertella corni-marisi* under the acidic conditions produced by its host fungus in vitro *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 71(5):1230-1235.
<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/bbb/-char/en>

12. Sharma RL, Kaul JL, 1990. Efficacy of hot water and carbendazim treatments in controlling brown rot of apple. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology, 20(1):47-48
13. Smith IM, Dunez J, Lelliott RA, Phillips DH, Archer SA(Editors), 1992. Handbook of plant diseases. Madrid, Spain; Ediciones Mundi-Prensa, 671 pp
14. Wormald H, 1954. The brown rot diseases of fruit trees. Technical Bulletin of the Ministry of Agriculture No.3. London, UK: HMSO.
15. Xu X-M, Berrie AM, and Harris DC (1998) Epidemiology of brown rot (*Monilinia fructigena*) on apple and pear. Proceedings of the 7th International Congress of Plant Pathology, Edinburgh. Paper number 3.7.52.
16. Xu XM, Robinson JD, 2000. Epidemiology of brown rot (*Monilinia fructigena*) on apple: infection of fruits by conidia. Plant Pathology, 49(2):201-206
17. Xu XM, Guerin L, Robinson JD, 2001. Effects of temperature and relative humidity on conidial germination and viability, colonization and sporulation of *Monilinia fructigena*. Plant Pathology, 50(5):561-568.
18. X.-M. Xu, J. D. Robinson, Berrie A. M. and Harris D. C.,2001. Spatio-temporal dynamics of brown rot (*Monilinia fructigena*) on apple and pear. Plant Pathology 50(5):569-578.
19. <http://plantbiosecuritydiagnostics.net.au/wordpress/wp-content/uploads/2014/01/NDP1-Monilinia-fructigena-REV-Jan-2014-V2.pdf>
20. <http://www.cabi.org/isc/datasheet/34747>
21. http://www.gospodarski.hr/Publication/2013/23-24/novi-uzronik-smee-trulei-kotiovog-voa/7910#.U6Rsjvl_sUM

7 SAŽETAK

Monilinia fructigena značajan je uzročnik smeđe truleži plodova jezgričavoga voća.

Cilj rada bio je utvrditi dinamiku razvoja smeđe truleži na umjetno inokuliranim plodovima izolatom gljive *Monilinia fructigena* izoliranog s dunje. Od plodova za potrebe istraživanja inokulirano je pet sorti jabuka (Grenny Smith, Idared, Chrisp Pink, Jonagold, Golden Delicious), dok je za ispitivanje na kruškama inokulirano svega dvije sorte krušaka (Williams, Naši). Treći dan od inokulacije svi plodovi su pokazali tipične simptome smeđe truleži. Trideset i osmi dan, ujedno i posljednji dan mjerenja prosječnih vrijednosti promjera kolonije, najmanji promjer zabilježen je na sorti jabuke Jonagold (37,25 mm). Tek jedan uzorak sorte Grenny Smith imao je trulež na više od polovice ploda. Promjeri kolonija na ostalim sortama bili su: sorta Idared 39,75 mm, Golden Delicious 47,25 mm, Cripps pink 61,25 mm, te na kruškama sorte Naši 70 mm.

Osim dinamike razvoja smeđe truleži na umjetno inokuliranim plodovima jabuka i krušaka u radu je provedeno ispitivanje utjecaja dvije temperature od 15 °C i 22 °C i tri hranjive podloge (PDA, čapek, V8) na porast micelija, a na osnovi LSD testa, između pojedinih tretmana utvrđene su razlike.

Ključne riječi: Smeđa trulež, jabuka, kruška, porast micelija

8 SUMMARY

Monilinia fructigena is important plant pathogen which cause fruit rot of pome.

The aim of the study was to determine the dynamics of fruit rot on artificially inoculated fruit *Monilinia fructigena* isolate fungi isolated from quince. For this research it was inoculated five varieties of apples (Grenny Smith, Idared, Chrisp Pink, Jonagold, Golden Delicious), and two varieties of pears (Williams, Naši). The third day of inoculation all fruits showed typical symptoms of brown rot. Thirty-eighth day which was also the last day of measurement, average values colony diameter, the minimum diameter was recorded on apple Jonagold (37.25 mm). Only one sample of the variety Grenny Smith had rot on more than half of the fruit. The diameters of colonies on other varieties were: 39.75 mm Idared, Golden Delicious 47.25 mm, 61.25 mm Cripps Pink, and pears Our 70 mm.

In addition to the dynamics of the development of brown rot on artificially inoculated fruits apples and pears, the work has been carried out examining the impact of two temperatures of 15 °C and 22 °C and three culture media (PDA, Čapek, V8) on mycelial growth, based on LSD test between individual treatments were differences.

Key words: Brown rot, apple, pear, an increase of mycelium

9 POPIS TABLICA

1. Prosječne vrijednosti promjera lezije *Monilina fructigena* na različitim sortama jabuka i krušaka
2. Utjecaj podloge na porast micelija *Monilina fructigena* na temperaturama od 15 °C i 22 °C (LSD test)
3. Utjecaj dvije temperature na porast micelija *Monilina fructigena* treći dan od naciepljivanja na tri različite hranjive podloge (LSD test)
4. Utjecaj temperature od 15 °C i 22 °C na porast micelija *Monilina fructigena* sedmi dan od naciepljivanja na tri različite hranjive podloge (LSD test)
5. Utjecaj temperature od 15 °C i 22 °C na porast micelija *Monilina fructigena* deseti dan od naciepljivanja na tri različite hranjive podloge (LSD test)
6. Utjecaj temperature od 15 °C i 22 °C na porast micelija *Monilinia fructigena* četrnaesti dan od naciepljivanja na tri različite hranjive podloge (LSD test)

10 POPIS SLIKA

1. Smeđa trulež ploda jabuke
2. Monilinia fructigena u presjeku ploda jabuke
3. Životni ciklus gljive Monilinia fructigena
5. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Grenny Smith sedmi dan od inokulacije
6. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Idared sedmi dan od inokulacije
7. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Golden Delicious sedmi dan od inokulacije
8. Simptomi smeđe truleži na plodu kruške Naši sedmi dan od inokulacije
9. Simptomi smeđe truleži na plodu kruške Wiliams sedmi dan od inokulacije
10. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Grenny Smith četrnaesti dan od inokulacije
11. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Idared četrnaesti dan od inokulacije
12. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Cripps pink četrnaesti dan od inokulacije
13. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Grenny Smith trideset i osmi dan od inokulacije
14. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Jonagold trideset i osmi dan od inokulacije
15. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Idared trideset i osmi dan od inokulacije
16. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Golden Delicious trideset i osmi dan od inokulacije
17. Simptomi smeđe truleži na plodu jabuke Cripps pink trideset i osmi dan od inokulacije
18. Simptomi smeđe truleži na plodu Kruške Naši trideset i osmi dan od inokulacije
19. Porast micelija na temperaturi 22 °C, sedmi dan od nacjepljivanja na PDA hranjivu podlogu
20. Porast micelija na temperaturi 22 °C, četrnaesti dan od nacjepljivanja na PDA hranjivu podlogu

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Diplomski rad

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo, smjer Zaštita bilja

Patogenost *Monilinia fructigena* za jabuku i krušku

Antonija Topić

Sažetak: *Monilinia fructigena* značajan je uzročnik smeđe truleži plodova jezgričavoga voća.

Cilj rada bio je utvrditi dinamiku razvoja smeđe truleži na umjetno inokuliranim plodovima izolatom gljive *Monilinia fructigena* izoliranog s dunje. Od plodova za potrebe istraživanja inokulirano je 5 sorti jabuka (Grenny Smith, Idared, Chrisp Pink, Jonagold, Golden Delicious), dok je za ispitivanje na kruškama inokulirano svega dvije sorte krušaka (Williams, Naši). Treći dan od inokulacije svi plodovi su pokazali tipične simptome smeđe truleži. Trideset i osmi dan, ujedno i posljednji dan mjerenja prosječnih vrijednosti promjera kolonije, najmanji promjer zabilježen je na sorti jabuke Jonagold (37,25 mm). Tek jedan uzorak sorte Grenny Smith imao je trulež na više od polovice ploda. Promjeri kolonija na ostalim sortama bili su: sorta Idared 39,75 mm, Golden Delicious 47,25 mm, Cripps pink 61,25 mm, te na kruškama sorte Naši 70 mm.

Osim dinamike razvoja smeđe truleži na umjetno inokuliranim plodovima jabuka i krušaka u radu je provedeno ispitivanje utjecaja dvije temperature od 15 °C i 22 °C i tri hranjive podloge (PDA, Čapek, V8) na porast micelija, a na osnovi LSD testa, između pojedinih tretmana utvrđene su razlike.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Mentor: prof. dr. sc. Jasenka Ćosić

Broj stranica: 32

Broj slika: 20

Broj tablica: 6

Broj grafikona: 0

Broj literaturnih navoda: 22

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: Smeđa trulež, jabuka, kruška, porast micelija

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. izv.prof.dr. sc. Karolina Vrandečić predsjednik
2. prof.dr. sc. Jasenka Ćosić, mentor
3. prof.dr. sc. Mirjana Brmež, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

Graduate thesis

Faculty of Agriculture

University Graduate Studies Plant production course Plant Protection

Pathogenicity of *Monilinia fructigena* for apple and pear

Antonija Topić

Abstract: *Monilinia fructigena* is important plant pathogen which cause fruit rot of pome.

The aim of the study was to determine the dynamics of fruit rot on artificially inoculated fruit *Monilinafructigena* isolate fungi isolated from quince. For this research it was inoculated five varieties of apples (Grenny Smith, Idared, Chrisp Pink, Jonagold, Golden Delicious), and two varieties of pears (Williams, Naši). The third day of inoculation all fruits showed typical symptoms of brown rot. Thirty-eighth day which was also the last day of measurement, average values colony diameter, the minimum diameter was recorded on apple Jonagold (37.25 mm). Only one sample of the variety Grenny Smith had rot on more than half of the fruit. The diameters of colonies on other varieties were: 39.75 mm Idared, Golden Delicious 47.25 mm, 61.25 mm Cripps Pink, and pears Our 70 mm.

In addition to the dynamics of the development of brown rot on artificially inoculated fruits apples and pears, the work has been carried out examining the impact of two temperatures of 15 °C and 22 °C and three culture media (PDA, Čapek, V8) on mycelial growth, based on LSD test between individual treatments were differences.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: prof.dr. sc. Jasenka Čosić

Number of pages: 32

Number of figures: 20

Number of tables: 6

Numbers of graph: 0

Number of references: 23

Number of appendices: 0

Key words: Brown rot, apple, pear, an increase of mycelium

Thesis defended on date:

Reviewers: prof. dr. sc. Jasenka Čosić

1. izv.prof.dr.sc. Karolina Vrandečić predsjednik
2. prof.dr.sc. Jasenka Čosić, mentor
3. prof.dr.sc. Mirjana Brmež, član

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Kralja Petra Svačića 1d, 31000 Osijek